

## 歯周炎治療のパラダイムシフト

大島 光宏

### A Paradigm Shift in Treatment of Periodontitis

Mitsuhiro OHSHIMA

#### はじめに

歯周炎とは、かつては歯槽膿漏と呼ばれていた疾患である。歯を支える歯周組織の病気を総称して歯周病と呼ぶが、主に歯肉炎と歯周炎とに分けられる。成人の約8割が歯周病に罹患しているとされるが、その多くは歯肉炎であり、歯磨きをすれば治癒する。日本には約5,000万人の歯周病患者と、糖尿病罹患者とほぼ同数である約700万人の歯が抜ける歯周炎患者がいると推定され<sup>1,2)</sup>、歯周炎による年間の抜歯数が613万本程度と見込まれているので、単純計算では年間にひとり1本ずつ歯を失っていることになる。この10年間の歯周病学分野の発展に関しては、他の総説に詳しく記されている<sup>3)</sup>ので、本稿では筆者独自の視点から新たな歯周炎治療の可能性について論じてみたい。

#### 歯周病因論の変遷

歯周炎の原因は長いあいだ不明とされてきた<sup>4)</sup>が、50年前、歯に付いた細菌性プラーク（歯垢）と歯肉炎との関係が証明された<sup>5)</sup>途端に、歯周病は感染症で、さらに歯周炎の原因まで細菌ということになってしまった。そして、いくつかの口腔常在菌が歯周病（原）菌<sup>6)</sup>という汚名を着せられることになった。歯周炎の“原因”が特定されたこの50年間、若干の抜歯数の減少はみられたが、ワクチンが開発されたわけでもなく、根本的な解決にはほど遠い状態が続いている。

#### 筆者の疑問

感染症というのは、通常、微生物が生体内に侵

入して発病する<sup>7)</sup>。歯周炎では（原則として）、細菌は歯の周囲に付着してバイオフィルムを形成しているだけ<sup>8)</sup>で、侵入するわけではない（歯磨きで40%程度の人が一過性の菌血症になることは知られている<sup>9)</sup>）。普段は意識していないが、私たちのカラダの表面は無数の細菌で覆われており、口の中（カラダの外）もその例外ではない。私たちのカラダは300～400種類、約60兆個の細胞でできているが、細菌数はその10倍と言われている<sup>10)</sup>。

*Porphyromonas gingivalis* を始めとした“培養できる”歯周病原菌こそ歯周炎の原因と言われている<sup>11)</sup>が、地球上の生物の86%が（計算上）未知種であり<sup>12)</sup>、しかも培養できる菌は全体の1%未満と推定され<sup>13)</sup>、歯周炎のワクチンができない<sup>14)</sup>、動物の歯肉に歯周病原菌（*P. g.* 菌）を注射しても歯周炎にならない（広島大学歯学部・高田教授のコメント）、*P. g.* 菌による歯周炎発症機序はわからない<sup>15)</sup>、など疑問は尽きない。また近年、次世代シーケンサーによる口腔内細菌のマイクロバイーム解析により、その種類が1000を超えること、これまでの培養データとは常在菌叢が違うことなどが判明し、培養をもとにした“口腔常在菌叢”の理解に変革が迫られている<sup>16)</sup>。チェアサイドでの歯肉縁下プラークの検査は患者に利点をもたらさないこと<sup>16)</sup>がわかり、それでも“培養できる歯周病（原）菌”にこだわる必要があるのか疑問に思う。

さらに最近、歯周炎が糖尿病、肥満、喫煙などの非感染症と相関することを逆の視点から捉え、生体側の感受性に関する研究が重要との意見<sup>17)</sup>も

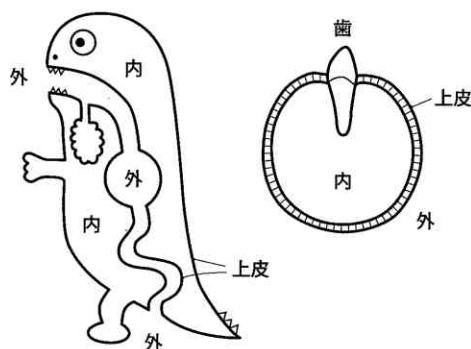


図1 カラダの内と外

(大島光宏, 山口洋子: 日薬理誌 141, 314-320, 2013から許可を得て引用)

出てきている。さらなるインパクトは、歯を磨いても磨かなくとも重度歯周炎の罹患率が変わらない<sup>18,19)</sup>というデータである。原因菌がわかったはずなのに、歯周炎患者が一向に減らないということは、歯周炎の原因（言い換えると大きなリスクファクター）は細菌以外の可能性があるのではないだろうか。「歯周炎＝細菌が原因」という固定観念にとらわれていると未来永劫、歯周炎治療に何らの進歩ももたらされないのではないかと考えた。

### 問題の本質

歯周炎で歯を失うという問題の本質は、歯と骨とのあいだのコラーゲンによる結合組織性付着がなくなり、上皮が根尖方向に入り込み、やがて根尖付近まで到達し歯をカラダの外に排除してしまうことにある。これをアタッチメント・ロスと呼び、歯肉炎との違いはまさにここにある（アタッチメント・ロスが起これば歯周炎）。しかし、アタッチメント・ロスが起こる理由は依然不明のままである。「歯周炎は歯を支える骨が溶けて・・・」との説明がなされているが、吸収された骨は炎症が消退すればある程度は元に戻る<sup>20)</sup>。また、アタッチメント・ロスを自然発生させられるような動物モデルが作れない<sup>21,22)</sup>ことも、原因究明を遅らせている。

### 創傷治癒仮説

ヒトをはじめとした多細胞生物（動物）のカラダは“ちくわ”に例えられ、消化管、呼吸器、泌

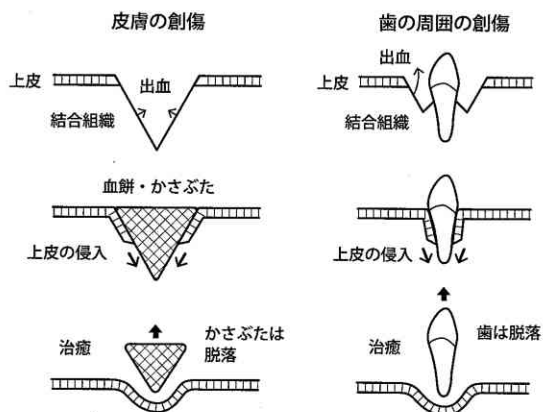


図2 皮膚の創傷と歯の周囲の創傷

(大島光宏, 山口洋子: 日薬理誌 141, 314-320, 2013から許可を得て引用)

尿生殖器などの表面は、すべて上皮のバリアで覆われている（図1）。従って、カラダの表面は無数の常在菌に覆われているが、カラダの中は（通常いくつか感染しているウイルスを除き）原則として無菌である。そう考えると、カラダの表面で（見かけ上）穴があいている、つまり上皮の連続性が途絶えている場所は、歯が生えているところだけとなる（図1）。このことから、歯と歯肉のあいだ（歯肉溝）には常に好中球が遊走しており、感染防御の最前線を担っている。

さて図2左に示したとおり、皮膚の創傷では血餅、ついにかさぶたができ、上皮の連続性が回復するとかさぶたが脱落する。歯肉炎でも出血することがあり、もし歯の周りをカラダが創傷と認識した場合、上皮でこの部分を被覆しようと歯根に沿って上皮が深行増殖し、カラダ表面の上皮の連続性は回復するが、結果として歯が脱落する、これが歯周炎ではないかと考えた（図2右）。

### 上皮細胞を呼ぶ因子

そこで、結合組織の線維芽細胞が上皮細胞に対する走化性因子を分泌しているはずだと考えて調べたところ、がん細胞の浸潤や転移にかかわるとされる肝細胞増殖因子（HGF）が候補として浮上した<sup>23)</sup>。この成長因子は歯周炎罹患歯の周囲で多く検出されたため<sup>24)</sup>、歯周炎のマーカーとして使用可能と判断し、現在 HGF 試験紙を開発中である。

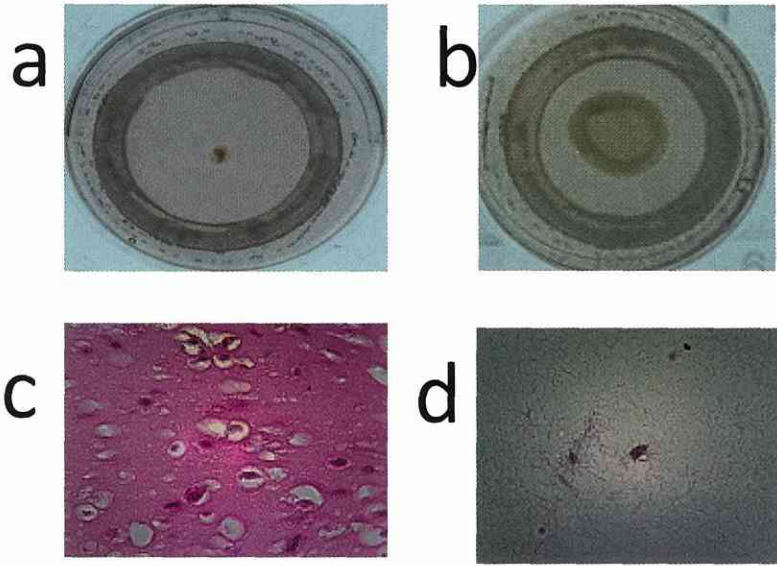


図3 生体外歯周炎モデル

重度歯周炎歯肉由来の線維芽細胞をゲル内に播種するとコラーゲンは極度に分解されてゲルは縮小するが(a, c), 健康歯肉由来線維芽細胞の場合は、通常のゲル収縮が観察されるにとどまる(b, d)。

(大島光宏, 山口洋子:日薬理誌 141, 314-320, 2013から許可を得て引用)

### 三次元培養歯周炎モデル

コラーゲンゲルに線維芽細胞を入れ、その上に上皮細胞を播く三次元培養を行ったところ、初代培養した上皮細胞はがん細胞のようにゲル内に浸潤しなかった。ところが、歯周炎罹患歯肉由来の線維芽細胞をゲル内に播種した場合にコラーゲンが極度に分解された(図3)ため、この細胞を歯周炎関連線維芽細胞(periodontitis-associated fibroblasts, PAFs)と名付け、歯周炎の原因(重要なリスクファクター)がこの線維芽細胞にあるのではないかと考えた<sup>25)</sup>。コラーゲンゲルの分解に伴って発現が上昇する遺伝子を調べたところ、HGFをはじめとした“がん関連線維芽細胞”で知られている遺伝子の発現上昇が観察された。私たちはこの三次元培養モデルを“生体外歯周炎モデル”と名づけ、コラーゲン分解を阻害する物質のスクリーニングを開始した。最初に見つかったPAFsによるコラーゲン分解の阻害剤、すなわち歯周炎分子標的治療薬の候補はTGF- $\beta$ RIキナーゼ阻害剤であった<sup>25)</sup>。しかしTGF- $\beta$ は、ほぼすべての細胞が産生し、受容体を有するので治療薬

として不適切であることが予想されたため、使用歴の長い生薬に着目した。昭和大学薬学部・故鳥居塚和生教授との共同研究で、オウゴン、ケイヒ、ブクリョウなど延べ23種類の生薬にコラーゲン分解阻害作用が見出され、特許出願した(図4)(特開2011-256136, 投稿準備中)。

また、DNAマイクロアレイによる歯周炎原因候補遺伝子検索の結果、VEGFR1 (FLT-1) が候補として挙げられ、このキナーゼ阻害剤が新たな分子標的治療薬の候補となった(投稿中)。逆に、コラーゲン分解阻害効果のある生薬のターゲットが、これらの受容体キナーゼである可能性もあり、今後さらに検討していく予定である。

### 口腔がんとの関係

「腫瘍」も創傷治癒反応であるという考え方がある<sup>26)</sup>ことから、PAFsが“がん関連線維芽細胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)”と似ている可能性について検討した。三次元培養モデルを用いて口腔がん細胞を播種したところ、PAFsがゲル内にいる場合には、がん細胞が高度に浸潤した。ここにある生薬を添加すると、がん細胞の浸

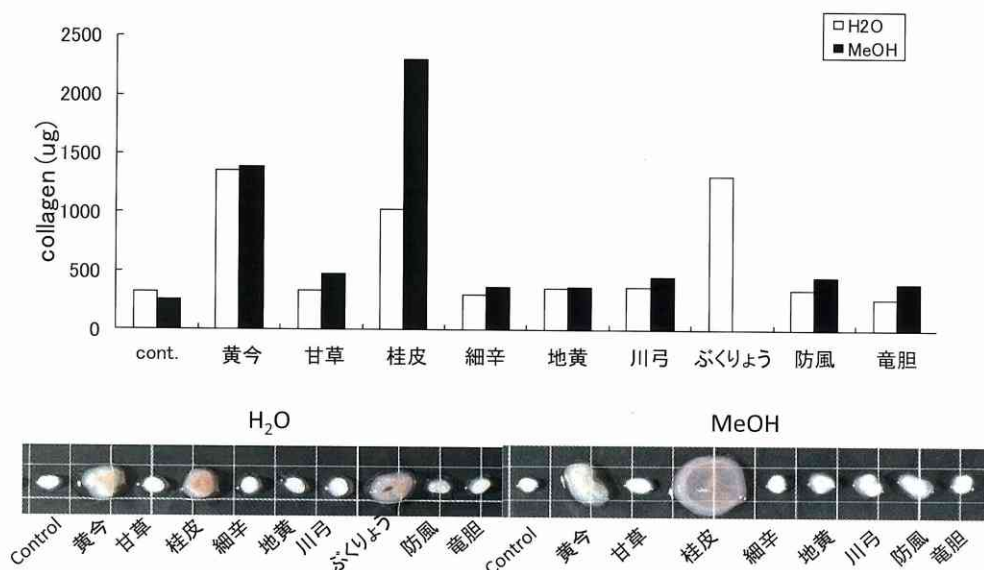


図4 生薬によるコラーゲン分解の抑制

ある種の生薬を「生体外歯周炎モデル」に含めると、コラーゲン分解は抑制される  
(大島光宏, 山口洋子: 日薬理誌 141, 314-320, 2013から許可を得て引用)

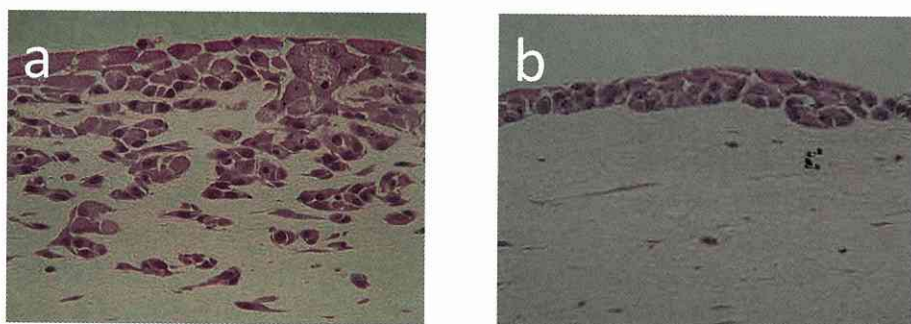


図5 舌癌細胞の浸潤を抑制する生薬X

アグレッシブな線維芽細胞は舌癌細胞の浸潤を促進する(a)が、ここに生薬Xを加えるとその浸潤は抑制される(b)

(大島光宏, 山口洋子: 日薬理誌 141, 314-320, 2013から許可を得て引用)

潤を大幅に抑制するものが見出され、生薬ががんの治療薬としての可能性も有していることが判明した(図5)(特開2013-79215)。

歯周炎で歯を喪失した人は口腔がんの罹患率が高いことが報告されている<sup>27)</sup>ことから、がんでも同様の細胞が関与している可能性について検討を重ねている。

### 理研 FANTOM5

理化学研究所による国際コンソーシアム FANTOM5において、PAFsのCAGE法による

解析をお願いした。正常細胞の定義となるプロモーターの網羅的解析に関する論文は昨年出版され、同時にデータベースは公開された<sup>28)</sup>が、PAFsに関する部分は未だ公開されていない。現在、理研および東大呼吸器内科との共同研究によってPAFsに関するCAGEデータの解析が進められており、ある重要な遺伝子の転写開始点に相違があることが判明している。この成果がPAFsの成り立ちに迫れることを期待している。また、これらの結果をもとに、PAFsを同定できる検査キットを開発中である。



## おわりに

研究を始めてから25年目の春、偶然にも歯周炎の原因細胞ではないかと確信した PAFs に出会うことができたおかげで、多くの方々にご協力をいただき多角的な解析ができるようになった。この細胞を解析していくことで、そのアグレッシブな振る舞いを防ぐ方法が見つければ、これまでとは違った治療法や予防法への道が開かれ、その結果（50年かかるかもしれないが）本稿の表題である「歯周炎治療のパラダイムシフト」が起きるのではないかと期待している。最近聞いた話であるが、病気の7割は原因不明で、多くの医師は対症療法に終始しているそうである。そう考えると、若気の至りで「歯周炎の原因を突き止めよう！」と思い立ったこと自体が無謀だったのではないかと自嘲している。

チャールズ・ダーウィンが「種の起原」で提唱したとおり、全ての生物が共通の祖先（細胞）に由来すると仮定すれば、全ての生物は共通のシステム（遺伝暗号表、アミノ酸はL・糖はD、解糖系など）を使って生存していることになり、特定の生物（例えばある細菌）だけに、また特定の細胞（例えばがん細胞）だけに奏功する薬を求めること自体、根本的に無理があるのかもしれないと思うようになった。

最近、Nature Medicine に「中枢で肥満と老化によって誘導される TGF- $\beta$  の過剰は RNA ストレスを介して糖尿病発症を促進する」<sup>28)</sup> という論文が掲載された。歯周病と全身疾患との関わりのヒントも、実は中枢神経に潜んでいるのかもしれない。

## 謝 辞

この長年に亘る研究を推進する上で、非常に多くの方々のご協力をいただきました。ここに改めて深謝申し上げます。この研究の一部は、ふくしま医療福祉機器開発事業補助金、科学研究費補助金挑戦的萌芽(#15K15768)、同基盤C(#25460137)の支援により行われました。

## 文 献

- 1) 佐藤 聡：「口から始めるからだの健康」～歯周病と歯周病に対する取り組みの現状～、「環境と健康シリーズ」No.68, 大同生命厚生事業団, 2012.  
<http://www.daido-life-welfare.or.jp/pdf/No.68.pdf>
- 2) 糖尿病ネットワーク, 糖尿病の調査・統計・数字 <http://www.dm-net.co.jp/calendar/chousa/population.php>
- 3) Kinane, D. F. and Monbelli, A. : Periodontal Disease, *Frontiers of Oral Biology* 15 ; 2012.
- 4) 大橋良昭：歯槽膿漏症の生化学的研究：東女医大誌 30 ; 2385-2395 1960.
- 5) L  e, H., Theilade, E. and Jensen, S. B. : Experimental gingivitis in man. : *J Periodontol.* 36 ; 177-187 1965.
- 6) Holt, S. C. and Bramanti, T. E. : Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. : *Critical rev. Oral Biol. Med.* 2 ; 177-281 1991.
- 7) 川喜田愛郎：感染論：岩波書店, p. 239 1964.
- 8) 村上伸也：歯周病の診断・治療・メインテナンスを再考する：J. Health Care Dent. 6 ; 23-41 2004.
- 9) Durack, D. T. : Prevention of infective endocarditis. : *N. Engl. J. Med.* 332 ; 38-44 1995.
- 10) J. アッカーマン：究極のソーシャルネット. : 日経サイエンス 42/10(496) ; 41-48 2012.
- 11) 京都大学大学院医学研究科微生物感染症学分野 <http://www.tmd.ac.jp/grad/bac/PG.html>
- 12) Mora, C., Tittensor, D. P., Adl, S., *et al* : How many species are there on earth and in the ocean? : *PLoS Biology* ; 9 ; e1001127 2011.
- 13) Hugenholtz, P., Goebel, B. M. and Pace, N. R. : Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. : *J. Bacteriol.* 180 ; 4765-4774 1998.
- 14) Choi, J-I : Seymour, G. J. : Vaccines against periodontitis : a forward-looking review. : *J. Periodontal Implant Sci.* 40 ; 153-163 2010.
- 15) Wade, W. G. : Has the use of molecular methods for the characterization of the human oral microbiome changed our understanding of the role of bacteria in the pathogenesis of periodontal disease? : *J. Clin. Periodontol.* 38 Suppl. 11 ; 7-16 2011.
- 16) Fernandez, Y., Mostajo, M., Zaura, E., Crielaard, W. and Beertsen, W. : Does routine analysis of subgingival microbiota in periodontitis contribute to patient benefit? : *Eur. J. Oral Sci.* 119 ; 259-264 2011.
- 17) Hasturk, H., Kantarci, A. and Van, Dyke, T. E. : Paradigm shift in the pharmacological man-

- agement of periodontal diseases. : Periodontal disease, *Front Oral Biol.* **15** ; 160-176 2012.
- 18) L  , H., Anerud, A., Boysen, H. and Morrison, E. : Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. : *J. Clin. Periodontol.* **13** ; 431-440 1986.
  - 19) Eke, P. L., Dye, B. A., Wei, L., *et al* : Prevalence of periodontitis in adults in the United States : 2009 and 2010. : *J. Dent. Res.* **91** ; 914-920 2012.
  - 20) Kantor, M. : The behavior of angular bony defects following reduction of inflammation. : *J. Periodontol.* **51** ; 433-436 1980.
  - 21) Graves, D.T., Kang, J., Andriankaja, O., Wada, K. and Rossa, Jr. C. : Animal models to study host-bacteria interactions involved in periodontitis. : Periodontal disease, *Front Oral Biol.* **15** ; 117-132 2012.
  - 22) Oz, H. S. and Puleo, D. A. : Animal models for periodontal disease. : *J. Biomed. Biotech.* ; ID754857 2011.
  - 23) Ohshima, M., Noguchi, Y., Ito, M., Maeno, M. and Otsuka, K. : Hepatocyte growth factor secreted by periodontal ligament and gingival fibroblasts is a major chemoattractant for gingival epithelial cells. : *J. Periodontal Res.* **36** ; 377-383 2001.
  - 24) Ohshima, M., Sakai, A., Ito, K. and Otsuka, K. : Hepatocyte growth factor (HGF) in periodontal disease : detection of HGF in gingival crevicular fluid. *J. Periodontal Res.* **37** ; 8-14 2002.
  - 25) Ohshima, M., Yamaguchi, Y., Matsumoto, N., *et al* : TGF- $\beta$  signaling in gingival fibroblast-epithelial interaction. : *J. Dent. Res.* **89** ; 1315-1321 2010.
  - 26) Dvorak, H. F. : Tumors : wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. : *N. Eng. J. Med.* **315** ; 1650-1659 1986.
  - 27) FANTOM Consortium and the RIKEN PMI and CLST(DGT), Forrest, A.R., Kawaji, H., Rehli, M., *et al* : A promoter-level mammalian expression atlas. : *Nature.* **507** ; 462-470 2014.
  - 28) Yan, J., Zhang, H., Yin, Y., *et al* : Obesity- and aging-induced excess of central transforming growth factor- $\beta$  potentiates diabetic development via an RNA stress response. : *Nature Med.* **20** ; 1001-1008 2014.
- 著者への連絡先 : 大島光宏, (〒963-8611) 福島県郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学薬学部生化学分野  
 Reprint requests : Mitsuhiro OHSHIMA, Department of Biochemistry, Ohu University School of Pharmaceutical Sciences  
 31-1 Misumido, Tomita-machi, Koriyama, Fukushima, 963-8611, Japan